

12

# DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

22 Date de dépôt : 30.07.90.

30 Priorité :

43 Date de la mise à disposition du public de la demande : 31.01.92 Bulletin 92/05.

56 Liste des documents cités dans le rapport de recherche : Se reporter à la fin du présent fascicule.

60 Références à d'autres documents nationaux apparentés :

71 Demandeur(s) : UNIVERSITE DE CAEN — FR.

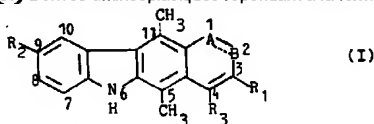
72 Inventeur(s) : Robba Max, Gauduchon Pascal, Lancelot Jean-Charles, Letaiaer Jean-Yves et Rault Sylvain.

73 Titulaire(s) :

74 Mandataire : Cabinet Malemont.

54 Dérivés du 6H-pyrido[3,2-b] carbazole, leur procédé de préparation et leur application en thérapeutique.

57 Dérivés antinéoplasiques répondant à la formule:



dans laquelle:

- R<sub>2</sub> = H, halogène, OH, CH<sub>3</sub>O ou carbéthoxyoxy, et
- l'enchaînement -A=—B- représente

(i) -N=C-<sup>R</sup>, auquel cas R<sub>3</sub> désigne :

) soit OH ou Cl; R et R<sub>4</sub>, qui peuvent être identiques ou différents, représentant alors chacun: H; alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>; méthoxyméthyle ou méthoxyéthyle; -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-COR<sub>4</sub> où n = 0, 1, 2 ou 3 et R<sub>4</sub> = OH, alkoxy en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> ou hydrazino; ou benzyle;

) soit alkoxy en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> ou acyloxy en C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>; R et R<sub>4</sub>, qui peuvent être identiques ou différents, représentant alors H ou alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, ou

(ii) -N=C-<sup>H</sup>, auquel cas R<sub>3</sub> = OH et R<sub>1</sub> = H.

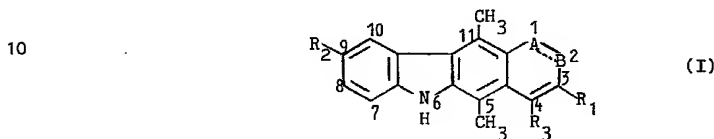


1

Dérivés du 6H-pyrido[3,2-b] carbazole, leur procédé de préparation et leur application en thérapeutique

La présente invention a pour objet de nouveaux dérivés du 6H-pyrido[3,2-b] carbazole, leur procédé de préparation et leur application en thérapeutique.

Les dérivés selon l'invention répondent plus précisément à la formule :



15 dans laquelle :

- R2 représente un atome d'hydrogène ou d'halogène ou un groupe hydroxyle, méthoxy ou carbéthoxy, et
- l'enchaînement -A==B- représente

20

(i)  $\text{-N}=\overset{\text{R}}{\text{C-}}$ , auquel cas R<sub>3</sub> désigne

\*) soit un groupe hydroxyle ou un atome de chlore ; R et R<sub>1</sub>, qui peuvent être identiques ou différents, représentant alors chacun :

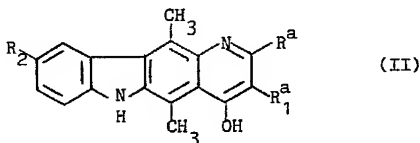
- 25                   . un atome d'hydrogène ;  
                  . un groupe alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> ;  
                  . un groupe méthoxyméthyle ou méthoxyéthyle ;  
                  . un groupe de formule -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-COR<sub>4</sub> où n = 0, 1, 2 ou 3  
                  et R<sub>4</sub> représente un groupe hydroxyle, alkoxy en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>  
30                   ou hydrazino, ou  
                  . un groupe benzyle ;

\*) soit un groupe alkoxy en C1-C4 ou acyloxy en C2-C5 ; R et R1 qui peuvent être identiques ou différents, représentant alors un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle en C1-C4 ; ou

2

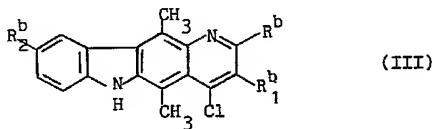
(ii)  $\text{H} \overset{\text{O}}{\parallel} \text{N}-\text{C}-$ , auquel cas  $\text{R}_3$  représente un groupe hydroxyle et  $\text{R}_1$  représente un atome d'hydrogène.

Dans la portée de la formule (I) ci-dessus, entrent notamment les dérivés répondant aux formules (II) à (V) ci-après :



dans laquelle :

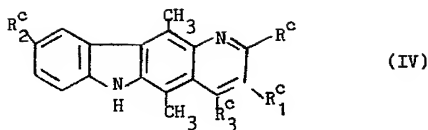
- $\text{R}_2 = \text{H}, \text{OH}, \text{CH}_3\text{O}, \text{halogène ou } \text{OCO}_2\text{C}_2\text{H}_5$ ,
- $\text{R}^a = \text{H}, \text{alkyle en C}_1\text{-C}_4, \text{méthoxyméthyle, méthoxyéthyle, COOH ou } (\text{CH}_2)_n\text{-COO-alkyle en C}_1\text{-C}_4 \text{ où } n = 0, 1, 2 \text{ ou } 3, \text{ et}$
- $\text{R}^{a1} = \text{H}, \text{alkyle en C}_1\text{-C}_4, \text{COOH, } (\text{CH}_2)_n\text{-COO-alkyle en C}_1\text{-C}_4 \text{ où } n = 0, 1, 2 \text{ ou } 3, (\text{CH}_2)_n\text{-CO-NH-NH}_2 \text{ où } n = 0, 1, 2 \text{ ou } 3 \text{ ou benzyle ;}$



dans laquelle :

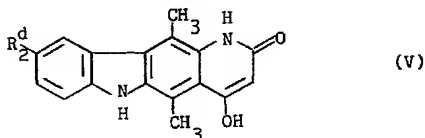
- $\text{R}^b = \text{H ou halogène},$
- $\text{R}^b = \text{H}, \text{alkyle en C}_1\text{-C}_4, \text{méthoxyméthyle, méthoxyéthyle ou } (\text{CH}_2)_n\text{-COO-alkyle en C}_1\text{-C}_4 \text{ où } n = 0, 1, 2 \text{ ou } 3, \text{ et}$
- $\text{R}^{b1} = \text{H}, \text{alkyle en C}_1\text{-C}_4 \text{ ou } (\text{CH}_2)_n\text{-COO-alkyle en C}_1\text{-C}_4 \text{ où } n = 0, 1, 2 \text{ ou } 3 ;$

3



dans laquelle :

- $R^c$  = H ou alkyle en C1-4,
- $R^{c1}$  = H ou alkyle en C1-C4,
- $R^{c2}$  = H ou halogène, et
- $R^{c3}$  = alcoxy en C1-C4 ou acyloxy en C2-C5 ;

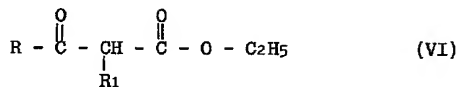


dans laquelle  $R^{d2}$  = H ou halogène.

La présente invention concerne également les sels d'addition d'acide physiologiquement acceptables des dérivés de formule (I). Il s'agit des sels d'addition d'acide minéral tels que les chlorhydrates, bromhydrates, sulfates et phosphates, ainsi que des sels d'addition d'acide organique tels que les acétates, oxalates, méthanesulfonates, pyruvates, lactates, tartrates, malates, citrates, benzoates, sulfosalicylates et mandelates.

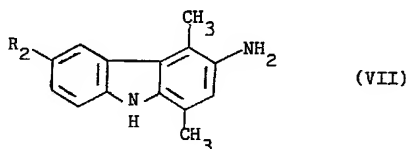
Le procédé de synthèse des dérivés de formule (I), comprend :

a) la condensation des composés de formule :

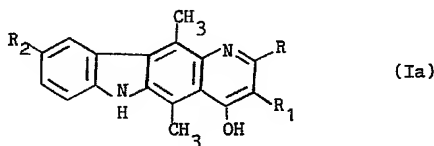


4

où R et R<sub>1</sub>, qui peuvent être identiques ou différents, représentent chacun H, méthoxyméthyle, méthoxyéthyle, alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, benzyle ou (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-COR<sub>4</sub> où n = 0, 1, 2 ou 3 et R<sub>4</sub> = OH, alkoxy en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> ou hydrazino, respectivement sur les composés de formule :

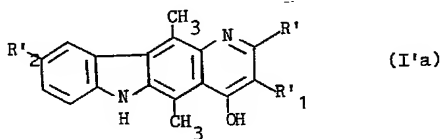


où R<sub>2</sub> = H, halogène, OH, CH<sub>3</sub>O ou OCO<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, cette condensation étant de préférence effectuée à chaud, dans un solvant organique tel que le benzène et en présence d'acide acétique, ce qui conduit aux dérivés de formule (I) de structure particulière :



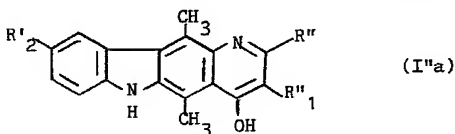
dans laquelle R et R<sub>1</sub> ont la même signification que dans la formule (VI) et R<sub>2</sub> a la même signification que dans la formule (VII),

b) l'hydrolyse basique, de préférence par la soude aqueuse, des dérivés de formule (Ia) pour lesquels R<sub>2</sub> = H, OH, OCH<sub>3</sub> ou halogène et l'un au moins parmi R et R<sub>1</sub> représente un groupe (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-COR'<sub>4</sub> où n = 0, 1, 2 ou 3 et R'<sub>4</sub> = alkoxy en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, ce qui conduit aux dérivés de formule (I) et de structure particulière :



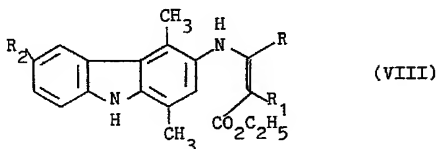
où  $R'_2 = H$ , halogène, OH ou  $OCH_3$  et l'un au moins parmi  $R'$  et  $R'_1$  représente  $(CH_2)_n-COOH$  où  $n = 0, 1, 2$  ou  $3$  et l'autre représente H, alkyle en C1-C4, méthoxyméthyle, méthoxyéthyle ou benzyle,

c) l'action de l'hydrazine sur les dérivés de formule (I'a), ce qui conduit aux dérivés de formule (I) et de structure particulière :

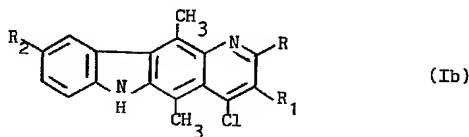


où  $R'_2 = H$ , halogène, OH ou  $OCH_3$  et l'un parmi  $R''$  et  $R''1$  représente  $(CH_2)_n-COR''4$  où  $n = 0, 1, 2$  ou  $3$  et  $R''4 = NH-NH_2$  et l'autre représente H, alkyle en C1-C4, méthoxyméthyle, méthoxyéthyle ou benzyle,

d) la chloro déshydroxylation des dérivés de formule (Ia), par l'oxychlorure de phosphore ou la cyclisation, de préférence par l'oxychlorure de phosphore, des composés de formule :



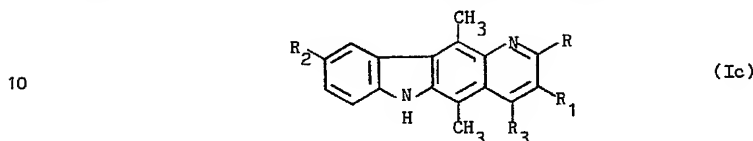
où R et  $R_1$  ont la même signification que dans la formule (VI) et  $R_2$  a la même signification que dans la formule (VII), ce qui conduit aux dérivés de formule (I) et de structure particulière :



où R et  $R_1$  ont la même signification que dans la formule (VI) et  $R_2$  a la même signification que dans la formule (VII),

6

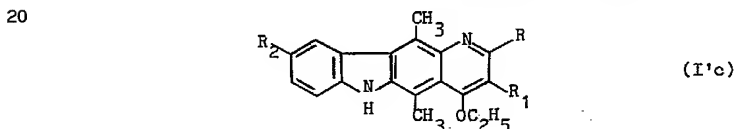
e) la condensation d'un composé d'alkylation du type (alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-X où X représente un groupe électrophile bon partant (tel qu'un atome d'halogène) ou d'un composé d'acylation du type (acyle en C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>)-Cl, (acyle en C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>)<sub>2</sub>O ou ester activé de l'acide (acyle en C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>)-OH, sur les dérivés de formule (Ia) pour lesquels R et R<sub>1</sub> représentent indépendamment H ou alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, ce qui conduit aux dérivés de formule (I) de structure particulière :



où R et R<sub>1</sub> représentent indépendamment H ou alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, R<sub>2</sub> a la même signification que dans la formule (VII) et R<sub>3</sub> = alkoxy en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> ou acyle en C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>,

15

f) le chauffage des composés de formule (VIII) où R<sub>1</sub> = CO<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, de préférence à une température de 220 à 250°C, ce qui conduit aux dérivés de formule (I) et de structure particulière :

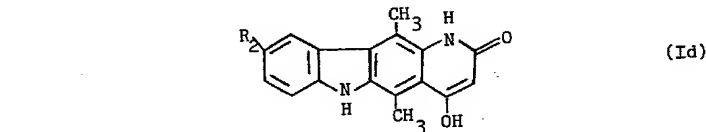


où R et R<sub>2</sub> ont les mêmes significations que dans la formule (Ic) et R<sub>1</sub> = H,

25

g) la cyclisation par le malonate de diéthyle des composés de formule (VII), ce qui conduit aux dérivés de formule (I) de structure particulière :

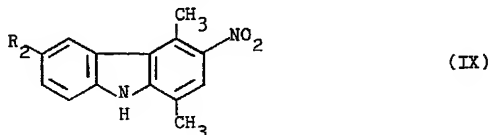
30



où  $R_2 = H$ , halogène OH,  $CH_3O$  ou  $OCO_2C_2H_5$ , et/ou

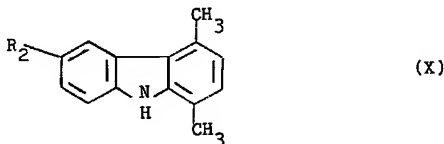
h) la salification par un acide organique ou minéral des dérivés de formule (Ia), (I'a), (I''a), (Ib), (Ic), (I'c) ou (Id).

Par ailleurs, les composés de formule (VII) ci-dessus peuvent être obtenus par réduction du groupe nitro des composés de formule :



où  $R_2 = H$ , halogène, OH,  $CH_3O$  ou  $OCO_2C_2H_5$ , par exemple par le chlorure stanneux et l'acide chlorhydrique, ou par l'hydrogène en présence d'un catalyseur d'hydrogénation comme le charbon palladié.

Les composés de formule (IX) peuvent être obtenus par nitration par l'acide nitrique des composés de formule :



Par réduction par le borohydrure de sodium, dans un alcool comme le méthanol, du composé de formule (IX) pour lequel  $R_2 = OCO_2C_2H_5$ , on obtient le composé de formule (IX) pour lequel  $R_2 = OH$ .

Le traitement de ce dernier par le diazométhane constitue un autre moyen d'accès au composé de formule (IX) pour lequel  $R_2 = OCH_3$ .

Enfin, le traitement du composé de formule (IX) pour lequel  $R_2 = OH$  par le chloroformiate d'éthyle, dans un solvant organique comme le toluène et en présence d'une base telle que la triéthylamine, conduit au composé de formule (IX) pour lequel  $R_2 = OCO_2C_2H_5$ .



Les préparations suivantes sont données à titre d'exemples purement illustratifs et non limitatifs des dérivés selon l'invention.

5     Exemple 1 : 1,4-diméthyl-3-nitro-6-éthoxycarbonyloxy-9H-carbazole  
          [(IX), R<sub>2</sub> = OCOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]  
          Numéro de code : 1

Méthode A

10       On dissout 20 g (0,076 mole) de 1,4-diméthyl-6-éthoxycarbonyloxy-9H-carbazole (X) dans 50 ml d'anhydride acétique, puis on additionne à 30° C 1 équivalent d'acide nitrique (d = 1,52) et on laisse agiter la solution 3 h. Le précipité formé est essoré, lavé à l'éther, séché et recristallisé dans l'acétonitrile. On obtient ainsi  
15     16 g du composé attendu (Rendement : 69 %).  
          . Point de fusion : 226° C  
          . Analyse élémentaire (C.H.N.) : C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

Méthode B

20       On porte au reflux 20 g (0,0781 mole) de 1,4-diméthyl-6-hydroxy-3-nitro-9H-carbazole (3) dans 600 ml de toluène avec 1 équivalent de chloroformiate d'éthyle en présence d'un excès de triéthylamine. Après refroidissement, la solution est reprise par 200 ml d'eau, la phase toluénique est séchée, puis concentrée sous  
25     pression réduite. Le précipité formé est recristallisé dans l'acétonitrile. On isole ainsi 21 g du composé attendu (Rendement : 82 %) fondant à 226° C.

30     Exemple 2 : 1,4-diméthyl-6-méthoxy-3-nitro-9H-carbazole  
          [(IX), R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>]  
          Numéro de code : 2

      On agite à 0° C dans 200 ml d'éther 10 g (0,044 mole) de 1,4-diméthyl-6-hydroxy-3-nitro carbazole (3) en présence d'un large excès de diazométhane. Le résidu est recristallisé dans l'acétonitrile.

On obtient ainsi 11 g du composé attendu (Rendement : 92 %).

. Point de fusion :  $> 270^{\circ} \text{C}$

. Analyse élémentaire (C.H.N.) :  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$

Exemple 3 : 1,4-diméthyl-6-hydroxy-3-nitro-9H-carbazole [(IX),  $\text{R}_2 = \text{OH}$ ]

Numéro de code : 3

On porte au reflux 20 g (0,0609 mole) de 1,4-diméthyl-6-éthoxycarbonyloxy-3-nitro-9H carbazole (1) dans 250 ml de méthanol en présence de 2 équivalents de borohydrure de sodium. Après extraction, le précipité est recristallisé dans l'acétonitrile et on isole 13 g du composé attendu (Rendement : 83 %).

. Point de fusion :  $258^{\circ} \text{C}$

. Analyse élémentaire (C.H.N.) :  $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$ .

Exemple 4 : 3-amino-1,4-diméthyl-6-éthoxycarbonyloxy-9H-carbazole

[(VII),  $\text{R}_2 = \text{OCO}_2\text{C}_2\text{H}_5$ ], Numéro de code : 4

Méthode A

On dissout 50 g (0,15 mole) de 1,4-diméthyl-6-éthoxycarbonyloxy-3-nitro-9H-carbazole (1) à  $150^{\circ} \text{C}$  dans 60 ml de N,N-diméthylformamide, puis on additionne cette solution à un mélange de 100 ml d'acide chlorhydrique concentré et de 30 ml d'acide acétique contenant 10 équivalents de chlorure stanneux. Après 2 h à  $70^{\circ} \text{C}$ , la suspension est versée dans une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium à 30 %. Le précipité formé est essoré, lavé à l'eau, séché et recristallisé dans l'éthanol. 25 g du composé attendu sont ainsi obtenus (Rendement : 56 %).

. Point de fusion :  $185^{\circ} \text{C}$

. Analyse élémentaire (C.H.N.) :  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$

Méthode B

On agite à  $60^{\circ} \text{C}$  dans un autoclave 20 g (0,0609 mole) de 1,4-diméthyl-6-éthoxycarbonyloxy-3-nitro-9H-carbazole (1) en solution dans 250 ml d'éthanol en présence de 7 g de charbon palladié à 5 % sous  $70 \text{ kg/cm}^2$  ( $\approx 70.10^5 \text{ Pa}$ ) d'hydrogène. Après dégazage la solution est évaporée sous pression réduite, et après recristallisation du résidu dans l'éthanol, on obtient 15 g du composé attendu (Rendement : 82,5 %) ayant un point de fusion de  $185^{\circ} \text{C}$ .

10

Exemple 5 : 3-amino-1,4-diméthyl-6-hydroxy-9H-carbazole

[(VII), R<sub>2</sub> = OH]

Numéro de code : 5

Méthode A

5 On ajoute 5,75 g (0,15 mole) de borohydrure de sodium à une solution de 10 g (0,03 mole) de 1,4-diméthyl-6-éthoxycarbonyloxy-3-nitro-9H-carbazole (1) dans 300 ml de méthanol. Après 2 h de reflux, la solution est évaporée sous vide, le résidu est repris par 100 ml d'eau, agité, filtré, séché et recristallisé dans l'éthanol pour donner 4 g du composé attendu (Rendement : 60 %).

. Point de fusion : 250° C

. Analyse élémentaire (C.H.N.) : C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O

Méthode B

15 On agite à 70° C dans un autoclave 20 g (0,078 mole) de 1,4-diméthyl-6-hydroxy-3-nitro-9H-carbazole (3) en solution dans 300 ml d'éthanol absolu en présence de 10 g de charbon palladié à 5 % sous 70 kg/cm<sup>2</sup> ( $\approx 70.10^5$  Pa) d'hydrogène. Après dégazage, la solution est filtrée, évaporée sous pression réduite et par recristallisation du résidu dans l'éthanol, on obtient 13 g du composé attendu (Rendement : 74 %). dont le point de fusion est de 250° C.

Exemple 6 : 3-amino-1,4-diméthyl-6-méthoxy-9H-carbazole

[(VII), R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>]

Numéro de code : 6

25 En utilisant la méthode B de l'exemple 5 et en partant de 15 g (0,055 mole) de 1,4-diméthyl-6-méthoxy-3-nitro-9H-carbazole (2), on obtient 10 g du composé attendu (Rendement : 76 %) dont le point de fusion est de 200° C.

Exemple 7 : 2,3,5,11-tétraméthyl-4-hydroxy pyrido[3,2-b]carbazole

[(Ia), R = R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = H]

Numéro de code : 7

30 On porte au reflux pendant 3 heures un mélange de 13 g (0,0062 mole) de 3-amino-1,4-diméthyl-9H-carbazole [(VII), R<sub>2</sub> = H] et de 13,40 g (0,093 mole) de 2-méthyl acétoacétate d'éthyle dans 800 ml de benzène en présence de 0,7 ml d'acide acétique. La solution est filtrée et concentrée sous vide. L'huile résiduelle est versée dans 50 ml de

11

diphényl éther préalablement chauffé à 230° C. Après refroidissement, la solution est versée dans 800 ml d'éther éthylique et agitée 1 heure. Le précipité formé est essoré, séché et recristallisé dans l'acétonitrile, ce qui conduit au dérivé attendu avec un rendement de

5

Exemple 8 : 9-éthoxycarbonyloxy-4-hydroxy-2,3,5,11-tétraméthyl-6H  
pyrido[3,2-b]carbazole

[(Ia), R = R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = OCO<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]

Numéro de code : 8

10

On chauffe au reflux pendant 3 heures 15 g (0,050 mole) de 3-amino-1,4-diméthyl-6-éthoxycarbonyloxy-9H-carbazole (4) et 19,50 g (0,15 mole) de 2-méthyl acétoacétate d'éthyle dans 300 ml de benzène en présence de 2 ml d'acide acétique. Après refroidissement, la solution est concentrée sous pression réduite, l'huile résiduelle obtenue est

15

chauffée à 250° C pendant 10 minutes dans 70 ml de diphényl'éther. Après refroidissement la solution est versée dans 600 ml d'éther anhydre, agitée puis filtrée. Le précipité formé est séché et recristallisé dans l'acétonitrile pour donner 13 g du dérivé attendu (Rendement : 69 %) sous la forme de cristaux jaunes.

20

. Point de fusion : > 270° C

. Analyse élémentaire : C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>

En opérant comme dans les exemples 7 et 8 ci-dessus, on peut préparer les dérivés de numéros de code 11 à 38 rassemblés dans le Tableau I ci-après.

25

Exemple 9 : 9-chloro-4-hydroxy-3-carboxy-5,11-diméthyl-6H-pyrido[3,2-b]  
carbazole

[(I'a), R' = H, R'<sub>2</sub> = Cl, R'<sub>1</sub> = COOH]

Numéro de code : 9

On chauffe à 100° C pendant 3 heures dans 150 ml d'hydroxyde de sodium à 15 %, 6 g (0,016 mole) de 9-chloro-4-hydroxy-3-carbéthoxy-5,11-diméthyl pyrido[3,2-b]carbazole (36). Après refroidissement, la solution est acidifiée à pH = 1 avec de l'acide chlorhydrique dilué. Le précipité formé est essoré, lavé à l'eau, séché et recristallisé dans l'acétonitrile. Le composé attendu (point de fusion > 280° C) est ainsi

35

obtenu avec un rendement de 65 %.

12

Exemple 10 : 9-chloro-4-hydroxy-3-carbohydrazidoéthyl-2,5,11-triméthyl-6H-pyrido[3,2-b]carbazole

[(I'a), R = CH<sub>3</sub>, R' = Cl, R'' = CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONHNH<sub>2</sub>]

Numéro de code : 10

5 On porte à 80° C pendant 2 heures dans 60 ml d'éthanol et 40 ml d'hydrate d'hydrazine, 2 g (0,0048 mole) de 9-chloro-4-hydroxy-3-carbéthoxyéthyl-2,5,11-triméthyl-6H-pyrido[3,2-b]carbazole (33). Après refroidissement, le précipité est essoré, lavé avec 30 ml d'éthanol, séché et recristallisé dans l'acétonitrile, ce qui conduit au dérivé  
10 attendu (point de fusion > 280° C) avec un rendement de 55 %.

Exemple 11 : 4-chloro-3-carbéthoxy-5,11-diméthyl-6H-pyrido[3,2-b]carbazole

[(Ib), R = H, R<sub>1</sub> = CO<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, R<sub>2</sub> = H]

Numéro de code : 39

15 Méthode A

On chauffe au reflux pendant 1 heure 5 g (0,013 mole) de 3-(1,1-dicarbéthoxyéthylidène amino)-1,4-diméthyl carbazole [(VIII), R = R<sub>2</sub> = H, R<sub>1</sub> = COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>] dans 80 ml d'oxychlorure de phosphore. La solution est évaporée à sec, hydrolysée avec 100 g de glace et 25 ml  
20 d'ammoniaque. Le précipité formé est essoré, lavé à l'eau, séché et recristallisé dans l'acétonitrile, ce qui conduit au dérivé attendu (Point de fusion : 195° C) avec un rendement de 70 %.

Méthode B

En traitant comme dans la Méthode A, 5 g (0,014 mole) de  
25 4-hydroxy-3-carbéthoxy-5,11-diméthyl-6H-pyrido[3,2-b]carbazole (19) par 60 ml d'oxychlorure de phosphore, on obtient le dérivé attendu (Point de fusion : 195° C) avec un rendement de 75 %.

De la même manière, on obtient les dérivés de numéros de code 40 à 44 rassemblés dans le Tableau II.

30 Exemple 12 : 4-acétoxy-2,5,11-triméthyl-6H-pyrido[3,2-b]carbazole

[(Ic), R = CH<sub>3</sub>, R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H, R<sub>3</sub> = OCOCH<sub>3</sub>]

Numéro de code : 45

On chauffe à 80° C pendant 15 minutes dans 30 ml d'anhydride acétique 1,5 g (0,0054 mole) de 4-hydroxy-2,5,11-triméthyl-6H  
35 pyrido[3,2-b]carbazole (22). La solution est refroidie, agitée dans

13

120 ml d'une solution saturée d'hydrogénocarbonate de potassium puis extraite par 150 ml d'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée puis concentrée sous vide ; les cristaux formés sont recristallisés dans un mélange éther éthylique (4)-acétate d'éthyle (6), ce qui conduit au dérivé attendu (Point de fusion : 170° C) avec un rendement de 54 %.

De la même manière, on obtient le dérivé de numéro de code 46 répertorié dans le Tableau III.

Exemple 13 : 4-éthoxy-5,11-diméthyl-6H-pyrido[3,2-b]carbazole

[(Ic), R = R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H, R<sub>3</sub> = OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]

Numéro de code : 47

0,5 g (0,0013 mole) de 3-(1,1-dicarbéthoxy éthylidèneamino)-1,4-diméthylcarbazole [(VIII), R = R<sub>2</sub> = H, R<sub>1</sub> = COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>] sont chauffés à 220° C pendant 5 minutes puis sublimés sous 0,05 mm Hg. On obtient ainsi le dérivé attendu (Point de fusion : 265° C) sous la forme de cristaux jaunes avec un rendement de 19 %.

Les dérivés de numéros de code 48 et 49 répertoriés dans le Tableau III sont obtenus de façon analogue.

Exemple 14 : 1,2-dihydro-2-oxo-4-hydroxy-5,11-diméthyl pyrido[3,2-b]carbazole

[(Id), R<sub>2</sub> = H]

Numéro de code : 50

On porte à 130° C pendant 20 minutes 4 g (0,019 mole) de 3-amino-1,4-diméthyl-9H-carbazole [(VII), R<sub>2</sub> = H] dans 4,30 ml de malonate de diéthyle. La solution est ensuite versée dans 30 ml de diphenyl éther chauffé à 230° C. Après 12 minutes à cette température, la solution est refroidie puis versée dans 500 ml d'éther. Le précipité formé est essoré, séché et recristallisé dans l'acétonitrile, ce qui conduit au composé attendu (Point de fusion : 265° C) avec un rendement de 19 %.

Les dérivés de numéros de code 51 et 52 répertoriés dans le tableau IV sont obtenus de façon analogue.

Exemple 15 : Tartrate de 4-hydroxy-2,5-11-triméthyl-6H-pyrido[3,2-b]carbazole

[(Ia), R = CH<sub>3</sub>, R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H]

14

Numéro de code : 53

On porte au reflux pendant 1 heure dans 60 ml d'alcool isopropylique 1 g (0,0036 mole) de 4-hydroxy-2,5,11-triméthyl-6H-pyrido[3,2-b]carbazole (22) avec 1,4 équivalent d'acide tartrique. Après refroidissement, le précipité formé est essoré et lavé à l'éther, ce qui conduit au sel attendu (Point de fusion : 265° C) avec un rendement de 60 %.

Exemple 16 : Méthanesulfonate du 9-chloro-4-hydroxy-2,3,5,11-tétraméthyl-6H-pyrido[3,2-b]carbazole

[(Ia), R = R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = Cl]

Numéro de code : 54

On dissout dans 1 litre d'éthanol absolu et 200 ml de DMSO à 70° C 20 g (0,061 mole) de 9-chloro-4-hydroxy-2,3,5,11-tétraméthyl-6H-pyrido[3,2-b]carbazole (13) et on ajoute 2 équivalents d'acide méthane sulfonique. Le chauffage à 70° C est maintenu pendant 10 mn puis on abandonne à température ordinaire 2 heures. Le précipité jaune clair formé est essoré, lavé avec 75 ml d'éthanol froid puis 500 ml d'éther éthylique, séché et recristallisé 3 fois dans l'acétonitrile. On obtient le sel attendu (Point de fusion : 260° C) sous la forme de cristaux jaunes avec un rendement de 77 %.

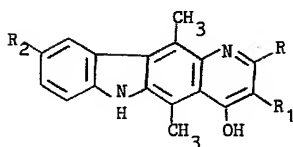
Les dérivés de numéros de code 55 à 81 répertoriés dans le Tableau V sont obtenus de façon analogue.

Exemple 17 : 3-(1,1-dicarbéthoxy éthylidène amino)-1,4-diméthylcarbazole [(VIII), R = R<sub>2</sub> = H, R<sub>1</sub> = COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]

On porte au reflux pendant 1 heure un mélange de 5 g (0,024 mole) de 3-amino-1,4-diméthyl-9H-carbazole et de 6 ml (0,028 mole) d'éthoxy-méthylidène malonate de diéthyle dans 50 ml d'éthanol absolu. Après refroidissement le précipité est essoré, séché et recristallisé dans l'acétonitrile. On obtient ainsi 7,25 g du composé attendu (Rendement : 79 %) sous la forme d'une poudre blanche dont le point de fusion est de 230° C.

Les autres composés de formule (VIII) sont obtenus de façon analogue à partir des produits de départ appropriés.

15  
TABLEAU I



(Ia)

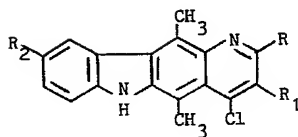
No. de Code	R <sub>2</sub>	R	R <sub>1</sub>	Point de fusion (°C)	Rendement (%)
7	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	265	65
8	OCO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	> 270	69
9	Cl	H	COOH	> 280	65
10	Cl	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CONHNH <sub>2</sub>	> 280	55
11	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	> 270	70
12	OH	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	> 270	20
13	Cl	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	> 270	60
14	Br	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	> 270	50
15	F	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	> 270	45
16	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	H	268	60
17	H	CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	H	> 280	60
18	H	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	240	50
19	H	H	CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	> 280	45
20	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	> 280	60
21	H	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	> 280	33
22	H	CH <sub>3</sub>	H	> 280	50
23	Br	CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	H	> 280	70
24	Br	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	> 280	65
25	Br	H	CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	> 280	60
26	Br	CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	> 280	30
27	Br	CH <sub>3</sub>	H	> 280	70
28	Br	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	> 280	40



16  
TABLEAU I (Suite)

No. de Code	R <sub>2</sub>	R	R <sub>1</sub>	Point de fusion (°C)	Rendement (%)
29	Br	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	194	40
30	Br	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	> 280	40
31	Cl	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	> 280	60
32	Cl	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	H	> 280	35
33	Cl	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	240	20
34	Cl	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	220	70
35	Cl	CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	H	> 280	60
36	Cl	H	CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	> 280	70
37	Cl	CH <sub>3</sub>	H	> 280	75
38	OCO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	> 280	65

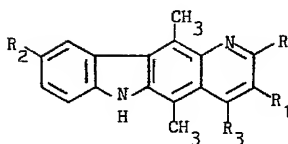
TABLEAU II



(Ib)

No. de Code	R <sub>2</sub>	R	R <sub>1</sub>	Point de fusion (°C)	Rendement (%)
39	H	H	CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	195	70
40	Br	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	190	60
41	Br	CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	220	54
42	Br	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	170	47
43	Cl	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	180	60
44	H	CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	H	190	70

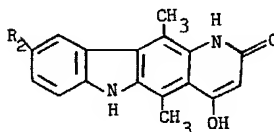
18  
TABLEAU III



(Ic)

No. de Code	R	R1	R2	R3	Point de fusion (°C)	Rendement (%)
45	CH <sub>3</sub>	H	H	OCOCH <sub>3</sub>	170	54
46	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	OCOCH <sub>3</sub>	184	63
47	H	H	H	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	265	19
48	H	H	Br	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	270	20
49	H	H	Cl	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	265	23

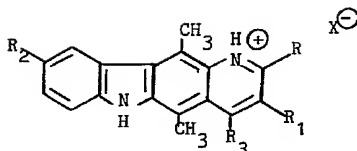
TABLEAU IV



(Id)

No. de Code	R2	Point de fusion (°C)	Rendement (%)
50	H	265	19
51	Cl	250	28
52	Br	235	36

19  
TABLEAU V



No. de	R <sub>2</sub>	R	R <sub>1</sub>	R <sub>3</sub>	X <sup>-</sup>	Point de fusion (°C)	Rendement (%)
53	H	CH <sub>3</sub>	H	OH	tartrate	265	60
54	Cl	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	méthane-sulfonate	260	77
55	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OCOCH <sub>3</sub>	oxalate	265	70
56	Br	CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	H	OH	oxalate	>280	60
57	Br	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	méthane-sulfonate	>280	70
58	Br	H	CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	OH	méthane-sulfonate	>280	64
59	Br	CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	méthane-sulfonate	>280	50
60	Br	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	OH	méthane-sulfonate	>280	75
61	Br	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	OH	oxalate	250	60
62	Br	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	OH	méthane-sulfonate	270	40
63	F	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	méthane-sulfonate	>280	73
64	Cl	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	OH	méthane-sulfonate	>280	35
65	Cl	CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	H	OH	oxalate	265	45
66	Cl	H	CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	OH	méthane-sulfonate	>280	50
67	Cl	CH <sub>3</sub>	H	OH	méthane-sulfonate	>280	75
68	Cl	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	HCl	>280	80
69	Cl	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	>280	50

20  
TABLEAU V (suite)

No. de code	R <sub>2</sub>	R	R <sub>1</sub>	R <sub>3</sub>	X <sup>-</sup>	Point de fusion (°C)	Rendement (%)
70	Cl	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	> 280	30
71	Cl	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	CH <sub>3</sub> COOH	> 280	45
72	Cl	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	CH <sub>3</sub> COOOH	> 280	40
73	Cl	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	OH-CH <sub>3</sub> -COOH   CH <sub>3</sub>	> 280	45
74	Cl	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	(CH <sub>3</sub> CHCO <sub>2</sub> H) <sub>2</sub>	> 280	55
75	Cl	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	citrate	> 280	25
76	Cl	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	picrate	> 280	40
77	Cl	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	sulfosalicylate	> 280	40
78	Cl	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	Cl	méthane-sulfonate	265	75
79	OCO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	HCl	> 280	80
80	OCO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	méthane-sulfonate	> 280	70
81	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	méthane-sulfonate	> 280	75

Les dérivés de formule (I) et leurs sels physiologiquement acceptables font preuve d'une activité antitumorale.

Cette activité a été mise en évidence sur les cellules de leucémie L 1210 et de leucémie P 388, ainsi que sur une tumeur solide, le mélanome B 16.

A titre d'exemple, on décrit ci-après en détail l'activité antinéoplasique du dérivé de numéro de code 5<sup>4</sup>.

a) Chimiosensibilité in vitro de la leucémie murine L 1210

Les essais in vitro sur la L 1210 sont réalisés par clonage des cellules sur milieu semi-solide (agar) selon une adaptation de la technique de Salmon et Hamburger. Les cellules sont incubées soit une heure à 37° C en présence du produit à tester avant la mise en culture (exposition brève), soit mises en culture directement en présence du produit à traiter (exposition continue). La lecture est faite 5 à 7 jours après le clonage et les résultats sont exprimés en pourcentage du nombre de clones formés par rapport aux contrôles. Dans les deux cas, toutes les expériences portant sur les cellules traitées et contrôles sont faites en triple. La concentration cellulaire est fixée à 40 000 cellules/ml. Les résultats obtenus sont représentés sur la figure 1.

b) Activité antitumorale sur des souris porteuses de tumeurs expérimentales

(i) Le dérivé de numéro de code 5<sup>4</sup> a été administré à des souris porteuses de la leucémie L 1210 et on a déterminé le rapport des temps médians de survie des animaux traités par rapport aux contrôles (T/C %). Les résultats obtenus sont rassemblés dans le Tableau VI.

L'activité antitumorale est nettement significative puisque le rapport T/C est égal à 204 % (prolongation de la survie [ILS %] = 104 %). De plus, il a été observé trois survivants sur dix à la dose DL (DL = 320 mg/kg, soit 0,76 mM/kg) et un survivant sur dix à la dose DL/2, au-delà de 90 jours.

(ii) Dans les mêmes conditions, ce dérivé a été testé sur des souris porteuses de la P 388. L'activité antitumorale est nettement positive, le T/C étant égal à 186 % (Voir Tableau VII).

(iii) Les résultats d'essais in vivo, réalisés sur le mélanome

22

B 16, indiquent que le dérivé de numéro de code 54 est très actif sur cette tumeur. Le rapport T/C est égal à 177 % avec un survivant sur dix dans le groupe d'animaux traités à la dose DL (Voir Tableaux VIII et IX).

5 c) Pouvoir mutagène à l'aide du test d'Ames

La mutagénicité du dérivé de numéro de code 54 a été testée au moyen de souches de *Salmonella typhimurium* avec et sans activation métabolique : TA 100 qui reverse par un mécanisme de substitution d'une paire de base ; TA 98, TA 1537 et TA 1977 qui reversent par décalage de lecture de code.

10 Ce dérivé ainsi que la plupart des composés selon l'invention sont pas ou peu mutagènes, car les mutations engendrées ne dépassent guère trois fois le taux de reversion spontané (TRS) de la souche correspondante. Les résultats (nombre moyen de révertants calculé sur 15 trois boîtes) obtenus avec le dérivé 54 figurent sur le Tableau X. Les concentrations utilisées sont : 0 (témoins), 2, 20, 100, 200 et 400 µg/ml (-S9 : sans activation, + S9 : avec activation métabolique). Dans ces conditions, même aux plus fortes doses, le nombre de révertants obtenus avec le dérivé 54 reste toujours inférieur à trois 20 fois le témoin (TRS).

25

30

35

23  
TABLEAU VI

LEUCEMIE L 1210 - ESSAI IN VIVO

5 TUMEUR : Leucémie L 1210      Solvant : Soluté injectable glucosé 5 %  
 Greffe : 10<sup>5</sup> cellules/souris      + Klucel 0,4 % et DMSO 10 %  
 Voie : i.p.      Jour d'évaluation : J 30  
 Race-sexe : CDF1 Femelle      Jour de toxicité : J 5

	Dose mg/kg/ i.p.	Survivant(s) au J 5	VPM.test J5-J1 (g)	VPM.ctrl. J5-J1 (g)	Temps médian de survie		T/C (%)
					Test	Contrôle	
10	60	10/10	+ 0,6	+ 1,1	10,7	8,8	121,6
15	120	10/10	+ 0,2	+ 1,1	11	8,8	125
20	160	10/10	- 0,6	+ 1,1	12	8,8	136,4 <sup>a</sup>
	240	10/10	- 1	+ 1,1	13,3	8,8	151,1
25	320	10/10	- 3,7	+ 1,1	18	8,8	204,5 <sup>b</sup>

30 VMP : Variation du poids moyen des souris traitées (test) et contrôles  
 (ctrl) au 5ème jour après l'inoculation de la tumeur, exprimée en  
 grammes.

T/C (%) : Médiane de survie des souris traitées (T) par rapport aux  
 contrôles (C), exprimée en pour cent.

a : 1/10 survivant (> 90 j) dans le groupe traité par 160 mg/kg

35 b : 3/10 survivants (> 90 j) dans le groupe traité par 320 mg/kg



24

## TABLEAU VII

## LEUCEMIE P 388 - ESSAI IN VIVO

5 TUMEUR : Leucémie P 388 Solvant : Soluté injectable glucosé 5 %  
 Greffe :  $10^6$  cellules/souris + Klucel 0,4 % et DMSO 10 %  
 Voie : i.p. Jour d'évaluation : J 30  
 Race-sexe : CDF1 Femelle Jour de toxicité : J 5

Dose mg/kg/ i.p.	Survivant(s) au J 5	VPM.test J5-J1 (g)	VPM.ctrl. J5-J1 (g)	Temps médian de survie		T/C (%)
				Test	Contrôle	
80	10/10	+ 1	+ 1,4	12	10,2	117,6
160	10/10	- 0,3	+ 1,4	13,75	10,2	134,8
200	10/10	- 0,3	+ 1,4	14,25	10,2	139,7
280	10/10	- 1,5	+ 1,4	17,75	10,2	174
320	10/10	- 2,4	+ 1,4	19	10,2	186,3

30 VPM : Variation du poids moyen des souris traitées (test) et contrôles  
 (ctrl) au 5ème jour après l'inoculation de la tumeur, exprimée en  
 grammes.

T/C (%) : Médiane de survie des souris traitées (T) par rapport aux  
 contrôles (C), exprimée en pour cent.

25  
TABLEAU VIII

MELANOME B 16 - ESSAI IN VIVO

TUMEUR : Mélanome B 16                      Solvant : Soluté injectable glucosé 5 %  
 Greffe : 0,5 ml (1:10)/souris                      + Klucel 0,4 % et DMSO 10 %  
 Voie : i.p.                      Jour d'évaluation : J 30  
 Race-sexe : CDF1 Femelle                      Jour de toxicité : J 5

Dose mg/kg/ i.p.	Survivant(s) au J 5	VPM.test J5-J1 (g)	VPM.ctrl. J5-J1 (g)	Temps médian de survie		T/C (%)
				Test	Contrôle	
60	10/10	+ 0,4	+ 1	18,7	15,1	123,8
120	10/10	+ 0,2	+ 1	19,3	15,1	127,8
240	10/10	- 2,3	+ 1	21,8	15,1	144,4
280	10/10	- 2,6	+ 1	24,9	15,1	164,9*

VPM : Variation du poids moyen des souris traitées (test) et contrôles (ctrl) au 5ème jour après l'inoculation de la tumeur, exprimée en grammes.

T/C (%) : Médiane de survie des souris traitées (T) par rapport aux contrôles (C), exprimée en pour cent.

\* 1/10 survivant (> 60 j) dans le groupe traité par 280 mg/kg.

26  
TABLEAU IX

MELANOME B 16 - ESSAI IN VIVO

TUMEUR : Mélanome B 16                      Solvant : Soluté injectable glucosé 5 %  
 Greffe : 10<sup>5</sup> cellules/souris                      + Klucel 0,5 % et DMSO 10 %  
 Voie : i.p.                      Jour d'évaluation : J 30  
 Race-sexe : BDF1 Femelle                      Jour de toxicité : J 5

Dose mg/kg/ i.p.	Survivant(s) au J 5	VPM.test J5-J1 (g)	VPM.ctrl. J5-J1 (g)	Temps médian de survie		T/C (%)
				Test	Contrôle	
80	10/10	+ 0,4	+ 1,3	19	15,7	121
160	10/10	+ 0,2	+ 1,3	19,9	15,7	126,8
320	10/10	- 1,4	+ 1,3	27,75	15,7	176,8*

VPM : Variation du poids moyen des souris traitées (test) et contrôles (ctrl) au 5ème jour après l'inoculation de la tumeur, exprimée en grammes.

T/C (%) : Médiane de survie des souris traitées (T) par rapport aux contrôles (C), exprimée en pour cent.

\* 1/10 survivant (> 60 j) dans le groupe traité par 320 mg/kg.

TABLEAU X  
EVALUATION DU POUVOIR MUTAGENE AVEC LE TEST D'AMES

5 Solvant : Diméthylsulfoxyde

10

15

20

25

S O U C H E	DOSE / BOITE											
	0 µg		2 µg		20 µg		100 µg		200 µg		400 µg	
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
TA 98	22	34	24	54	25	49	29	66	25	69	23	71
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	3	3	3	9	4	3	1	6	5	8	4	10
TA 100	83	109	102	98	101	113	105	117	103	129	106	130
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	7	7	16	3	16	2	10	9	1	3	4	7
TA 1537	7	7	6	9	14	9	16	14	11	9	9	10
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	3	2	3	3	3	4	6	2	3	2	2	1
TA 1977	5	8	7	12	6	9	5	8	3	8	3	7
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	2	1	3	4	1	3	2	3	2	5	1	4

Test d'Ames : Les résultats sont exprimés en nombre de colonies révertantes par boîte (moyenne calculée sur trois boîtes) pour les quatre souches, aux doses indiquées avec (+S9) et sans (-S9) activation métabolique.

30

35

Une étude de toxicité des dérivés et sels selon l'invention a par ailleurs montré qu'il existait un écart important entre les doses thérapeutiquement actives et la toxicité.

A titre d'exemple, on décrit ci-après l'étude de toxicité in vivo, effectuée sur le dérivé de numéro de code 54.

#### Toxicité chez la souris saine

Les études de toxicité aiguë et subaiguë ont été effectuées sur des souris CDF<sub>1</sub> saines (réparties par tirage au sort en groupe de 10 souris/dose) par administration intrapéritonéale du dérivé 54 suivant les différents protocoles :

- une seule injection (jour 1)
- 3 injections intermittentes (jours 1, 5, 9)
- 9 injections consécutives (jours 1-9)

Le dérivé a été solubilisé dans un soluté injectable glucosé 5 % contenant 0,4 % de Klucel et 10 % de diméthylsulfoxyde.

La DL<sub>50</sub> et la DL<sub>10</sub> sont déterminées par la méthode graphique en représentant le pourcentage d'animaux morts en ordonnées et les doses correspondantes en abscisses sur une échelle logarithmique. Les résultats obtenus ainsi que les coefficients de corrélation (r) figurent sur le tableau XI ci-après.

TABLEAU XI

Toxicité du dérivé 54 chez la souris CDF<sub>1</sub>

Injections	DL <sub>10</sub> (mg/kg)	DL <sub>50</sub> (mg/kg)	r
Jour 1	395	493	0,98
Jour 1,5, 9	384	466	0,99
Jour 1-9	263	310	0,99

Par conséquent, les dérivés de formule (I) et leurs sels physiologiquement acceptables, trouvent leur application en thérapeutique humaine ou animale, en tant qu'agents antinéoplasiques, pour le traitement des affections tumorales.

En particulier, ces dérivés et sels sont utiles pour la préparation de médicaments pour le traitement des affections susmentionnées, et notamment de compositions pharmaceutiques ou vétérinaires qui comprennent au moins l'un de ces dérivés et sels en association avec un support ou un excipient physiologiquement acceptable approprié pour lesdits composés.

Ces compositions peuvent par exemple être formulées en vue de leur administration par voie orale, parentérale ou rectale.

Pour l'administration par voie orale, lesdites compositions peuvent prendre la forme de comprimés, dragées ou gélules préparés par les techniques habituelles utilisant des supports et excipients connus tels que des diluants (par exemple, polyéthylène glycol, lactose, dextrose), des liants (par exemple, amidon, gomme arabique, gélatine, méthylcellulose, carboxyméthylcellulose, polyvinyl pyrrolidone), des charges, des lubrifiants (par exemple, stéarate de magnésium ou de calcium, acide stéarique, talc, silice) et des agents de désintégration (par exemple, amidon, acide alginique, alginate). Ces compositions, pour administration par voie orale, peuvent également prendre la forme de solutions, de sirops ou de suspensions ; les sirops peuvent contenir, à titre de support, par exemple du saccharose avec éventuellement de la glycérine et/ou du mannitol et/ou du sorbitol ; les suspensions peuvent contenir, à titre de support, par exemple une gomme naturelle, de l'agar, de l'alginate de sodium, de la pectine ou de la méthylcellulose ; quant aux solutions, il pourra s'agir de solutions aqueuses.

Pour l'administration par voie parentérale, les compositions selon l'invention peuvent prendre la forme de solutions, suspensions ou émulsions injectables comprenant un véhicule liquide, huileux ou aqueux, parentéralement acceptable (par exemple eau stérile, huile d'olive, oléate d'éthyle, propylène glycol dans le cas des formes pour l'injection intramusculaire et eau stérile ou solutions aqueuses

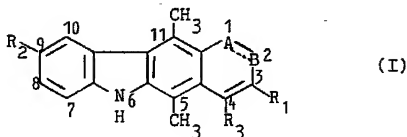
salines isotoniques stériles dans le cas des formes pour injection intraveineuse).

Enfin, pour l'administration par voie rectale, les compositions selon l'invention peuvent prendre la forme de suppositoires comprenant les bases habituelles pour suppositoires (par exemple, beurre de cacao, polyéthylène glycol).

La dose à laquelle les principes actifs, c'est-à-dire les dérivés de formule (I) et leurs sels, peuvent être administrés à l'homme ou à tout animal à sang chaud, dépend notamment de la voie d'administration, du poids corporel et de l'état pathologique du patient et de la puissance thérapeutique des dérivés et sels mis en oeuvre. Généralement, par voie orale, les doses pourront atteindre 500 mg de principe actif par jour (en une ou plusieurs prises) ; par voie parentérale, les doses pourront atteindre 250 mg de principe actif par jour (en une ou plusieurs injections journalières) et par voie rectale, les doses pourront atteindre 350 mg de principe actif par jour (en un ou plusieurs suppositoires).

## REVENDICATIONS

1. Dérivés du 6H-pyrido[3,2-b]carbazole, répondant à la formule :



dans laquelle :

- R<sub>2</sub> représente un atome d'hydrogène ou d'halogène ou un groupe hydroxyle, méthoxy ou carbéthoxyoxy, et
- l'enchaînement -A==B- représente

(i)  $\begin{array}{c} \text{R} \\ | \\ -\text{N}=\text{C}- \end{array}$ , auquel cas R<sub>3</sub> désigne

\*) soit un groupe hydroxyle ou un atome de chlore ; R et R<sub>1</sub>, qui peuvent être identiques ou différents, représentant alors chacun :

- . un atome d'hydrogène ;
- . un groupe alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> ;
- . un groupe méthoxyméthyle ou méthoxyéthyle ;
- . un groupe de formule  $-(\text{CH}_2)_n-\text{COR}_4$  où n = 0, 1, 2 ou 3 et R<sub>4</sub> représente un groupe hydroxyle, alkoxy en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> ou hydrazino, ou
- . un groupe benzyle ;

\*) soit un groupe alkoxy en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> ou acyloxy en C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub> ; R et R<sub>1</sub> qui peuvent être identiques ou différents, représentant alors un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> ; ou

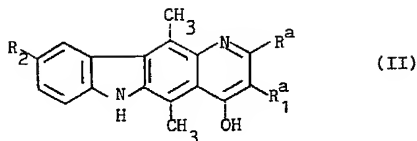
(ii)  $\begin{array}{c} \text{H} \\ | \\ -\text{N}-\text{C}- \end{array}$ , auquel cas R<sub>3</sub> représente un groupe hydroxyle et R<sub>1</sub> représente un atome d'hydrogène,

ainsi que les sels d'addition d'acide physiologiquement acceptables de ces dérivés.



32

2. Dérivés selon la revendication 1, de structure particulière :



10 dans laquelle :

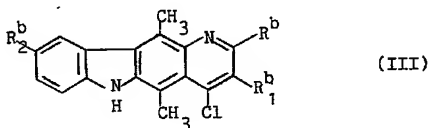
- $R_2$  = H, OH,  $\text{CH}_3\text{O}$ , halogène ou  $\text{OCO}_2\text{C}_2\text{H}_5$ ,
  - $R^a$  = H, alkyle en C1-C4, méthoxyméthyle, méthoxyéthyle,  $\text{COOH}$  ou  $(\text{CH}_2)_n\text{-COO-alkyle}$  en C1-C4 où  $n = 0, 1, 2$  ou 3, et
  - $R^{a_1}$  = H, alkyle en C1-C4,  $\text{COOH}$ ,  $(\text{CH}_2)_n\text{-COO-alkyle}$  en C1-C4 où  $n = 0, 1, 2$  ou 3,  $(\text{CH}_2)_n\text{-CO-NH-NH}_2$  où  $n = 0, 1, 2$  ou 3 ou benzyle ;
- 15

ainsi que leurs sels d'addition d'acide physiologiquement acceptables.

3. Dérivé selon la revendication 2, pour lequel  $R^a = R^{a_1} = \text{CH}_3$  et  $R_2 = \text{Cl}$ , et ses sels d'addition d'acide physiologiquement acceptables.

20

4. Dérivés selon la revendication 1, de structure particulière :



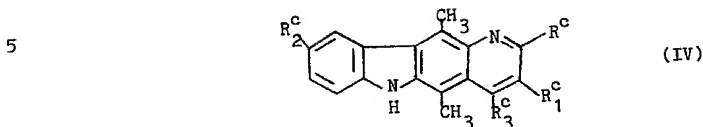
30 dans laquelle :

- $R^{b_2}$  = H ou halogène,
  - $R^b$  = H, alkyle en C1-C4, méthoxyméthyle, méthoxyéthyle ou  $(\text{CH}_2)_n\text{-COO-alkyle}$  en C1-C4 où  $n = 0, 1, 2$  ou 3, et
  - $R^{b_1}$  = H, alkyle en C1-C4 ou  $(\text{CH}_2)_n\text{-COO-alkyle}$  en C1-C4 où  $n = 0, 1, 2$  ou 3 ;
- 35

ainsi que leurs sels d'addition d'acide physiologiquement acceptables.

33

5. Dérivés selon la revendication 1, de structure particulière :

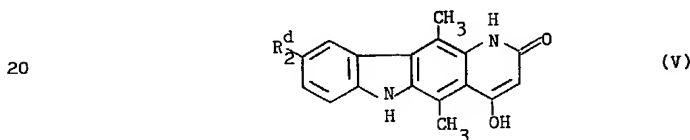


dans laquelle :

- 10
- $R^c$  = H ou alkyle en C1-4,
  - $R^{c1}$  = H ou alkyle en C1-C4,
  - $R^{c2}$  = H ou halogène, et
  - $R^{c3}$  = alcoxy en C1-C4 ou acyloxy en C2-C5 ,

15 ainsi que leurs sels d'addition d'acide physiologiquement acceptables.

6. Dérivés selon la revendication 1, de structure particulière :



25 dans laquelle  $R^{d2}$  = H ou halogène,

ainsi que leurs sels d'addition d'acide physiologiquement acceptables.

7. Composition pharmaceutique ou vétérinaire, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un dérivé ou sel selon l'une des revendications 1 à 6, en association avec un support ou excipient

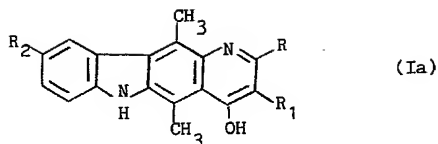
30 physiologiquement acceptable et approprié pour ledit dérivé ou sel.

8. Utilisation des dérivés et sels selon l'une des revendications 1 à 6, pour la fabrication d'un médicament pour le traitement des affections tumorales.

9. Procédé de préparation des dérivés selon la revendication 1

35 de formule (I) de structure particulière :

5



10

où :

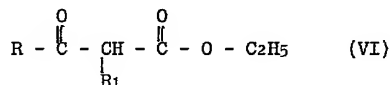
- R et R<sub>1</sub>, qui peuvent être identiques ou différents, représentent chacun H, méthoxyméthyle, méthoxyéthyle, alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, benzyle ou (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-COR<sub>4</sub> où n = 0, 1, 2 ou 3 et R<sub>4</sub> = OH, alkoxy en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> ou hydrazino, et

15

- R<sub>2</sub> = H, halogène, OH, CH<sub>3</sub>O ou OCO<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>,

ainsi que des sels de ces dérivés, caractérisé en ce qu'il comprend la condensation des composés de formule :

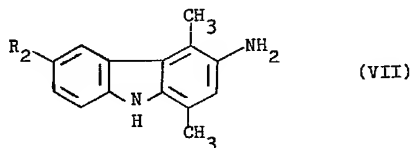
20



25

où R et R<sub>1</sub> ont la même signification que ci-dessus, respectivement sur les composés de formule :

30

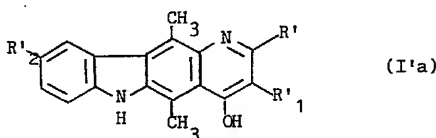


35 où R<sub>2</sub> = H, halogène, OH, CH<sub>3</sub>O ou OCO<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, et éventuellement la

35

salification par un acide organique ou minéral des dérivés ainsi obtenus.

10. Procédé de préparation des dérivés selon la revendication 1 de formule (I) de structure particulière :



où  $R'2 = H$ , halogène, OH ou  $OCH_3$  et l'un au moins parmi  $R'$  et  $R'1$  représente  $(CH_2)_n-COOH$  où  $n = 0, 1, 2$  ou  $3$  et l'autre représente H, alkyle en  $C_1-C_4$ , méthoxyméthyle, méthoxyéthyle ou benzyle, ainsi que des sels de ces dérivés, caractérisé en ce qu'il comprend l'hydrolyse basique des dérivés de formule (Ia) définie à la revendication 9 pour lesquels  $R_2 = H, OH, OCH_3$  ou halogène et l'un au moins parmi  $R$  et  $R_1$  représente un groupe  $(CH_2)_n-COR'4$  où  $n = 0, 1, 2$  ou  $3$  et  $R'4 = alcoxy$  en  $C_1-C_4$ , et éventuellement la salification par un acide organique ou minéral des dérivés ainsi obtenus.

11. Procédé de préparation des dérivés selon la revendication 1 de formule (I) de structure particulière :



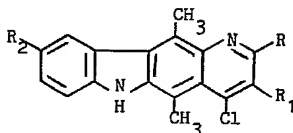
où  $R'2 = H$ , halogène, OH ou  $OCH_3$  et l'un parmi  $R''$  et  $R''1$  représente  $(CH_2)_n-COR''4$  où  $n = 0, 1, 2$  ou  $3$  et  $R''4 = NH-NH_2$  et l'autre représente H, alkyle en  $C_1-C_4$ , méthoxyméthyle, méthoxyéthyle ou benzyle, ainsi que des sels de ces dérivés, caractérisé en ce qu'il comprend l'action de l'hydrazine sur les dérivés de formule (I'a) définie à la revendication

36

10, et éventuellement la salification par un acide organique ou minéral des dérivés ainsi obtenus.

12. Procédé de préparation des dérivés selon la revendication 1 de formule (I) de structure particulière :

5



(Ib)

10

où

15

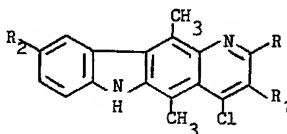
- R et R<sub>1</sub>, qui peuvent être identiques ou différents, représentent chacun H, méthoxyméthyle, méthoxyéthyle, alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, benzyle ou (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-COR<sub>4</sub> où n = 0, 1, 2 ou 3 et R<sub>4</sub> = OH, alkoxy en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> ou hydrazino, et

20

- R<sub>2</sub> = H, halogène, OH, OCH<sub>3</sub> ou OCO<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, ainsi que des sels de ces dérivés, caractérisé en ce qu'il comprend la chloro déshydroxylation, par l'oxychlorure de phosphore, des dérivés de formule (Ia) définie à la revendication 9, et éventuellement la salification par un acide organique ou minéral des dérivés ainsi obtenus.

13. Procédé de préparation des dérivés selon la revendication 1 de formule (I) de structure particulière :

25



(Ib)

30

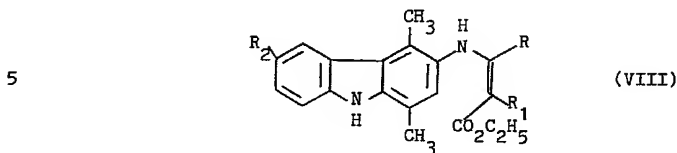
où

- R et R<sub>1</sub>, qui peuvent être identiques ou différents, représentent chacun H, méthoxyméthyle, méthoxyéthyle, alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, benzyle ou (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-COR<sub>4</sub> où n = 0, 1, 2 ou 3 et R<sub>4</sub> = OH, alkoxy en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> ou hydrazino, et

35

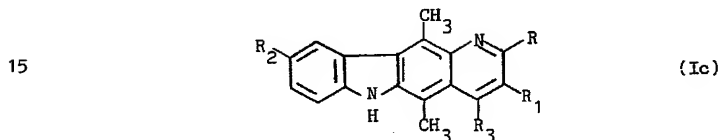
- R<sub>2</sub> = H, halogène, OH, OCH<sub>3</sub> ou OCO<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, ainsi que des sels de ces dérivés, caractérisé en ce qu'il comprend la

la cyclisation, par l'oxychlorure <sup>37</sup> de phosphore, des composés de formule :



et éventuellement la salification par un acide organique ou minéral des dérivés ainsi obtenus.

14. Procédé de préparation des dérivés selon la revendication 1 de formule (I) de structure particulière :



où R et R<sub>1</sub> représentent indépendamment H ou alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, R<sub>2</sub> = H, halogène, OH, CH<sub>3</sub>O ou OCO<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> et R<sub>3</sub> = alkoxy en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> ou acyle en C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>,

ainsi que des sels de ces dérivés, caractérisé en ce qu'il comprend la condensation d'un composé de formule :

25 (alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-X

où X représente un groupe électrophile bon partant, ou d'un composé de formule :

30 (acyle en C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>)-Cl, ou  
(acyle en C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>)<sub>2</sub>O

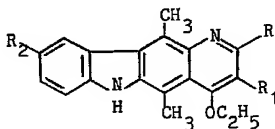
ou d'un ester activé de l'acide (acyle en C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>)-OH, sur les dérivés de formule (Ia) définie à la revendication 9 pour lesquels R et R<sub>1</sub> représentent indépendamment H ou alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, et éventuellement la

38

salification par un acide organique ou minéral des dérivés obtenus.

15. Procédé de préparation des dérivés selon la revendication 1 de formule (I) de structure particulière :

5



(I'c)

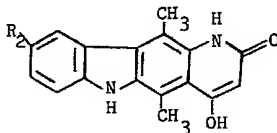
10 où R = H ou alkyle en C1-C4, R1 = H et R2 = H, halogène, OH, CH3O ou OCO2C2H5,

ainsi que des sels de ces dérivés, caractérisé en ce qu'il comprend le chauffage des composés de formule (VIII) défini à la revendication 13 pour lesquels R1 = CO2C2H5, et éventuellement la salification par un

15 acide organique ou minéral des dérivés ainsi obtenus.

16. Procédé de préparation des dérivés selon la revendication 1 de formule (I) de structure particulière :

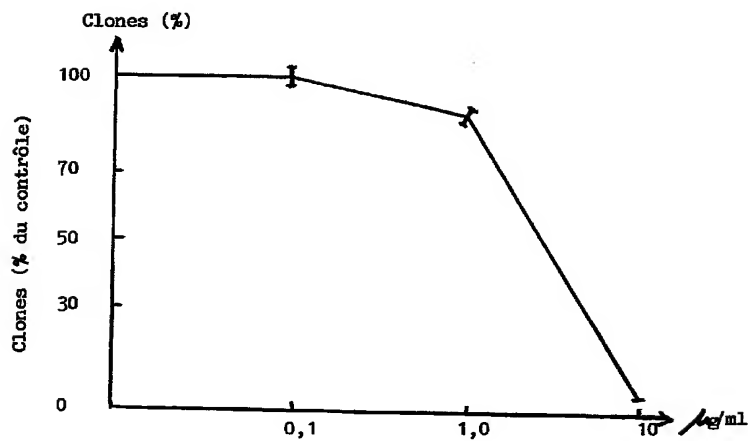
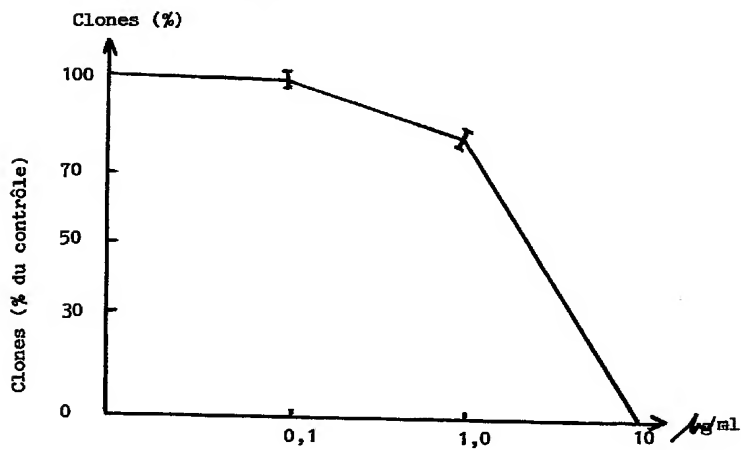
20



(Id)

25 où R2 = H, halogène, OH, CH3O ou OCO2C2H5,

ainsi que des sels de ces dérivés, caractérisé en ce qu'il comprend la cyclisation par le malonate de diéthyle des composés de formule (VII) définie à la revendication 9, et éventuellement la salification par un acide organique ou minéral des dérivés ainsi obtenus.

FIGURE 1a) EXPOSITION BREVEb) EXPOSITION CONTINUE



## INSTITUT NATIONAL

de la

PROPRIETE INDUSTRIELLE

## RAPPORT DE RECHERCHE

établi sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la recherche

FR 9009688

FA 447289

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	CHEMICAL AND PHARMACEUTICAL BULLETIN, vol. 35, no. 1, 1987, pages 425-428, Tokyo, JP; J.C. LANCELOT: "Efficient synthesis of 6H-pyrido [3,2-b] carbazole derivatives from 3-amino-1,4-dimethyl carbazole" * Pages 426,427, composés 7,10-13,15,16; page 425, lignes 1-6; page 428, lignes 8-10 *	1,7
X	JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, PERKIN I, 1972, pages 260-262, Londres, GB; J.-C. PERCHE et al.: "Carcinogenic nitrogen compounds. Part LXXIV. Skraup and combes-Beyer reactions with 3-aminocarbazoles; a new route to pyrido-[3,2'b]carbazoles" * Page 261, formules V-VIII; page 262, colonne 1, lignes 6-11 *	1,7
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.5)
		C 07 D 471/00 A 61 K 31/00
Date d'achèvement de la recherche. 12-04-1991		Examineur ALFARO I.
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES		
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		
T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons ***** & : membre de la même famille, document correspondant		

**Publication number:** FR2665162

**Publication date:** 1992-01-31

**Inventor:** MAX ROBBA; PASCAL GAUDUCHON; JEAN-CHARLES LANCELOT; JEAN-YVES LETALAER; SYLVAIN RAULT

**Applicant:** UNIV CAEN (FR)

**Classification:**

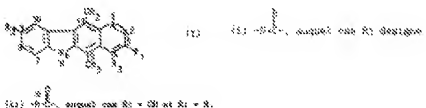
- international: **C07D471/04; C07D471/00;** (IPC1-7): A61K31/475; C07D471/04
- European: C07D471/04

**Application number:** FR19900009688 19900730

**Priority number(s):** FR19900009688 19900730

## Abstract of FR2665162

Antineoplastic derivatives corresponding to the formula: in which: - R2 = H, halogen, OH, CH3O or carbethoxyoxy, and - the -A---B- linkage represents (i) , in which case R3 denotes: \*) either OH or Cl; R and R1, which can be identical or different, each then representing: H, C1-C4 alkyl; methoxymethyl or methoxyethyl; -(CH2)n-COR4 where n = 0, 1, 2 or 3 and R4 = OH, C1-C4 alkoxy or hydrazino; or benzyl; \*) or C1-C4 alkoxy or C2-C5 acyloxy; R and R1, which can be identical or different, then representing H or C1-C4 alkyl; or ii) , in which case R3 = OH and R1 = H, m



Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide